

TRABAJO FIN DE GRADO

CAMBIOS VOLUMÉTRICOS EN LA CORTEZA TEMPORAL MEDIAL COMO FACTOR DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Javier Cotelo Sánchez

DIRECTOR: Ana M^a Insausti Serrano

Curso académico: 2016-2017

Convocatoria de defensa: 16 de junio de 2017

RESUMEN

Introducción: El creciente envejecimiento poblacional ha aumentado la prevalencia de enfermedades como el Alzheimer. Esta demencia progresiva e irreversible, caracterizada por pérdidas de memoria, es una de las causas principales de muerte en ancianos. El ejercicio físico se postula como una herramienta adecuada para asistir al tratamiento farmacológico en retardar el progreso de esta enfermedad.

Objetivo: Conocer el papel de la resonancia magnética en el diagnóstico del deterioro en pacientes con Alzheimer.

Material y métodos: Se analizó la volumetría de las cortezas temporopolar, perirrinal y entorrinal en personas con Alzheimer, Deterioro Cognitivo Leve y control a través de un método estereológico de conteo de puntos.

Resultados: Se produjeron reducciones significativas de volumen de la corteza temporopolar ($P=.043$) y de la corteza entorrinal ($P=.029$) entre el grupo Alzheimer y el grupo Control. No se mostraron diferencias significativas en el resto de áreas entre los grupos.

Conclusión: El análisis volumétrico sobre resonancias magnéticas puede actuar como coadyuvante en el diagnóstico in vivo de la enfermedad de Alzheimer. Además, tienen potencial para realizar un seguimiento del Alzheimer y el Deterioro Cognitivo Leve tras realizar ejercicio físico.

Palabras clave: Alzheimer, ejercicio físico, resonancia magnética, volumetría, diagnóstico.

ABSTRACT

Introduction: Growing population aging has increased the prevalence of diseases such as Alzheimer's. This progressive and irreversible dementia, characterized by memory loss, is one of the leading causes of death in the elderly. Physical exercise is postulated as an adequate tool to assist the pharmacological treatment in delaying the progression of this disease.

Objective: To know the role of magnetic resonance in the diagnosis of deterioration in patients with Alzheimer's disease.

Methodology: The volumetry of the temporopolar, Perirhinal and entorhinal cortex were analyzed in people with Alzheimer, mild cognitive impairment and control, following a stereological method of counting points.

Results: There were significant reductions in the volume of the temporopolar cortex ($P=.043$) and the entorhinal cortex ($P=.029$) between the Alzheimer group and the Control Group. No significant differences were found in the rest of the areas between the groups.

Conclusion: Volumetric analysis on magnetic resonance imaging may act as an adjunct in the in vivo diagnosis of Alzheimer's disease. In addition, they have the potential to track Alzheimer's and Mild Cognitive Impairment after physical exercise.

Keywords: Alzheimer Disease, Physical exercise, magnetic resonance, volumetry, diagnosis.

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

ADAS-Cog: Escala de Evaluación de Enfermedad de Alzheimer.

APP: Proteína Precursora de Amiloide.

BDNF: *Brain-Derived Neurotrophic Factor*

CA1: *Cornu Amonnis 1*

CDR: *Clinical Dementia Rating*– Clasificación Clínica de Demencia.

CE/EC: Corteza Entorrinal/ *Entorhinal Cortex*.

CIE: Clasificación Internacional de Enfermedades.

CP/PC: Corteza Perirrinal/ *Perirhinal Cortex*.

CTP/TPC: Corteza Temporopolar/ *Temporopolar Cortex*.

DCL: Deterioro Cognitivo Leve

DCLw: Demencia de Cuerpos de Lewy.

DSM: Diagnóstico de Enfermedades Mentales.

EA: Enfermedad de Alzheimer.

ECJ: Demencia en la Enfermedad de Creutzfeld-Jakob.

EEG: Electroencefalograma.

EFRC: Rápida Evaluación de las Funciones Cognitivas.

FC_{máx}: Frecuencia Cardíaca Máxima.

FC_{res}: Frecuencia Cardíaca de Reserva.

FH: Formación del Hipocampo.

GSD: *Global Deterioration Scale*– Escala Global de Deterioro.

LTM/MTL: Lóbulo Temporal Medial/ *Medial Temporal Lobe*.

MMSE: Mini-Mental State Examination.

NINCDS-ADRDA: *National Institute of Neurological and Communicative Disorders-Stroke and Alzheimer's and Related Association* – Instituto Nacional de Desórdenes Neurológicos y de Comunicación- Asociación de Accidentes Vasculares, Alzheimer y enfermedades relacionadas.

NMDA: N-metil-D-aspartato.

ReDeGi: Registro de Demencias de Girona.

RMN: Resonancia Magnética Nuclear.

SC: Surco colateral

SPECT: Tomografía Computerizada por Emisión de Fotones Simples.

ST: Surco Temporopolar

TC: Tomografía Computerizada.

TEP: Tomografía Computerizada por Emisión de Positrones.

V_{ref}: Volumen de referencia.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	2
1.1 Envejecimiento y demencias	2
1.2 Enfermedad de Alzheimer	10
1.3 Importancia del ejercicio físico en el deterioro cognitivo de la Enfermedad de Alzheimer	15
1.4 Importancia funcional del lóbulo temporal medial	17
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	20
2.1 Hipótesis	20
2.2 Objetivo principal	20
2.3 Objetivos secundarios	20
3. MATERIAL Y MÉTODOS	22
3.1 Selección de la muestra	22
3.2 Identificación de los bordes de las cortezas temporopolar, entorrinal y perirrinal	22
3.2.1 Corteza temporopolar	23
3.2.2 Corteza perirrinal	23
3.2.3 Corteza entorrinal	24
3.3 Bases teóricas de la estereología	25
3.4 Análisis volumétrico	27
3.5 Análisis estadístico	29
4. RESULTADOS	31
4.1 Volumetría en RM de las cortezas temporopolar, perirrinal y entorrinal	31
4.1.1 Aspectos generales	31
4.1.2 Corteza temporopolar	31
4.1.3 Corteza perirrinal	32
4.1.4 Corteza entorrinal	32
5. DISCUSIÓN	36
5.1 Factores metodológicos y biológicos que influyen en el análisis volumétrico	36
5.2 La resonancia magnética y el ejercicio físico	37

5.3 Efectos del ejercicio físico en la plasticidad cerebral	37
5.4 Ejercicio físico como propuesta de tratamiento no farmacológico	39
6. CONCLUSIÓN.....	43
7. AGRADECIMIENTOS.....	45
8. BIBLIOGRAFÍA	47

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Envejecimiento y demencias

Durante las últimas décadas, el aumento en la esperanza de vida ha provocado un crecimiento de la población de edad avanzada. Este proceso, conocido como envejecimiento poblacional, puede dar lugar a distintas enfermedades asociadas a la edad y con una prevalencia variable, como por ejemplo: artropatías, cardiopatías isquémicas, diabetes, fracturas, infecciones o demencia en la cual se centrará este estudio.

Se puede definir ⁽¹⁾ la demencia como un deterioro progresivo en la capacidad mental, lo suficientemente grave como para interferir en la vida diaria. Otros autores⁽²⁾ la definen como un síndrome adquirido producido por una causa orgánica capaz de provocar un deterioro persistente de las funciones mentales superiores que conlleva a una incapacidad funcional tanto en el ámbito social como laboral, en personas que no padecen alteraciones del nivel de conciencia. La demencia no es una enfermedad específica, sino que es un término general que describe una amplia variedad de síntomas relacionados con el deterioro de la memoria u otras capacidades de razonamiento. La demencia, a menudo, se suele denominar incorrectamente senilidad o demencia senil, debido a la creencia antigua de que el deterioro cognitivo grave era una parte implícita del envejecimiento.

Según la Fundación Española del Alzheimer⁽³⁾, las demencias se pueden clasificar de diferentes maneras en función de aspectos como: la edad de inicio, la etiología, los signos neurológicos acompañantes y, si son o no, tratables. Una de las más utilizadas es la que recoge la prevalencia de la misma:

TABLA 1: frecuencia absoluta y relativa de los diagnósticos de demencia registrados por el Registro de Demencias de Girona (ReDeGi) ⁽²⁾ 2007-2009 (criterios DSM-IV-R)

Tipos de demencia	n (%)		
	2007	2008	2009
Demencia de tipo Alzheimer	375 (60,5%)	399 (54,7%)	423 (56,8%)
Demencia vascular	97 (14,3%)	178 (25%)	121 (16,2%)
Demencia debida a Cuerpos de Lewy	33 (5,7%)	40 (5,4%)	35 (4,7%)
Demencia frontotemporal	18 (2,9%)	18 (2,4%)	20 (2,7%)
Demencia asociada a la enfermedad de Parkinson	16 (2,6%)	26 (3,6%)	20 (2,7%)
Demencia debida a enfermedad de Huntington	-	-	3 (0,4%)
Demencia debido a Creutzfeldt-Jacob	1 (0,2%)	2 (0,3%)	-
Otras demencias	79 (13,8%)	62 (8,6%)	119 (16,5%)
TOTAL	619 (100%)	725 (100%)	741 (100%)

- **Enfermedad de Alzheimer (EA):** es un desorden neurodegenerativo crónico manifestado, generalmente, en adultos mayores de 65 años de edad, y caracterizado por el desarrollo progresivo de disfunción cognitiva, síntomas tanto psiquiátricos como conductuales y dificultad para realizar actividades de la vida diaria. Es la demencia más prevalente. Se comentará más adelante en un apartado propio.
- **Demencia vascular:** la demencia vascular o multi-infarto, en realidad comprende todo un grupo de alteraciones cognoscitivas demenciales como consecuencia de lesiones vasculares cerebrales isquémicas o hemorrágicas, así como hipoperfusión cerebral de naturaleza circulatoria, y también los casos de demencias causadas por patologías mixtas vascular-degenerativas⁽⁴⁾. Afecta entre el 3,1 y el 20,8% de la población de más de 65 años. Al daño causado por la lesión vascular de origen, hay que añadirle los factores de riesgo que condicionan el deterioro cognitivo de origen vascular, como la hipertensión arterial, la diabetes, las dislipidemias, el consumo de tabaco, el síndrome dismetabólico y la existencia de alguna enfermedad carotídea⁽⁵⁾. Tras la lesión, suele haber periodos de recuperación parcial al ponerse en marcha los

mecanismos de plasticidad cerebral. El deterioro cognitivo suele ser desigual, de tal manera que puede haber una pérdida de memoria, un deterioro intelectual, labilidad emocional con episodios depresivos pasajeros, llantos o risas intempestivas, obnubilación de conciencia o de delirium transitorios, a menudo provocados por nuevos infartos y signos neurológicos focales mientras que la conciencia de enfermedad y la capacidad de juicio pueden estar relativamente conservados⁽³⁾.

- **Demencia de los cuerpos de Lewy (DCLw):** es una enfermedad degenerativa cerebral que se caracteriza clínicamente por deterioro cognitivo fluctuante, parkinsonismo y rasgos psicóticos⁽⁶⁾. Se estima que afecta a 1,3 millones de personas en los Estados Unidos. Los hallazgos patológicos principales son alteraciones a nivel de la corteza cerebral, núcleos subcorticales y troncoencefálicos, en forma de inclusiones intraneuronales compuestas por la proteína α -sinucleína, denominados cuerpos de Lewy. Estas proteínas actúan como las placas y los ovillos en la enfermedad de Alzheimer interrumpiendo la función normal de las células del cerebro llevándolas a la muerte celular. Tener antecedentes familiares con este tipo de demencia puede aumentar el riesgo de contraer esta forma de demencia aunque en algunas ocasiones se presenta sin ningún antecedente. La mayoría de los estudios indican que la enfermedad es ligeramente más común en hombres que en mujeres. Los individuos pueden desarrollar demencia con cuerpos de Lewy en combinación con la enfermedad de Alzheimer y/o la enfermedad de Parkinson⁽³⁾.

El rasgo central para el diagnóstico clínico de demencia con cuerpos de Lewy es: demencia definida como deterioro cognitivo progresivo de suficiente magnitud como para interferir con las funciones a nivel social o laboral normales. En las fases iniciales, puede no existir un trastorno de memoria notable y persistente pero, éste se hace evidente con la progresión⁽⁶⁾.

También existen síntomas nucleares (suficientes para el diagnóstico de probable DCLw): fluctuación cognitiva con variaciones notables en atención y alerta,

alucinaciones visuales recurrentes, típicamente bien estructuradas y detalladas, violencia y mayor actividad nocturna⁽⁶⁾.

Así mismo, existen rasgos sugestivos (uno o más sugestivos unidos a uno o más rasgos nucleares, constituyen un diagnóstico de probable DCLW): trastorno de conducta asociado al sueño REM, sensibilidad grave a los fármacos neurolépticos y baja captación del transportador de dopamina en ganglios basales demostrada mediante estudios de neuroimagen⁽⁶⁾.

Además de los anteriores, se pueden encontrar síntomas comunes a la enfermedad de Parkinson o Alzheimer: problemas en la creación de nueva memoria o recordar momentos pasados, confusión, marcha lenta, mente en blanco, toma de decisiones y acciones inapropiadas o extrañas⁽³⁾.

- **Demencia frontotemporal:** es una demencia progresiva de comienzo en la edad media de la vida (entre los 50-60 años) caracterizada por alteraciones del comportamiento y por cambios precoces y lentamente progresivos de carácter, que evolucionan hacia un deterioro de la inteligencia, de la memoria y del lenguaje, acompañado de apatía o de euforia. El cuadro neuropatológico corresponde a una atrofia selectiva de los lóbulos frontales y temporales, junto a una gliosis de la corteza de los ganglios basales. En las zonas afectadas se observan células de Pick, grandes en forma de balón con inclusiones intranucleares argentofílicas, agregados de proteínas que representan sitios de replicación viral o bacteriana, pero sin aparición de placas neuríticas ni degeneración neurofibrilar en magnitudes superiores a las del envejecimiento normal⁽³⁾.
- **Demencia en la enfermedad de Parkinson:** la enfermedad de Parkinson es una α -sinucleopatía que aparece de forma esporádica por lo general, aunque en ocasiones es hereditaria, transmitida de forma diversa en relación con diferentes mutaciones⁽⁷⁾. Se caracteriza por una degeneración del sistema dopaminérgico, sobre todo, por la afectación de la vía nigroestriada y el locus coeruleus. El inicio

se sitúa entre los 40 y 70 años, de los cuales entre un 20 y 30% de los enfermos desarrollan demencia, que aparece especialmente en las formas más graves de la enfermedad y con mayor tiempo de evolución. Se han propuesto algunos factores que pueden influir como la edad de inicio de la enfermedad, el tiempo de evolución, el sexo, la raza, una predisposición genética, la exposición a tóxicos, las infecciones, el estrés, la vitamina E, el tabaco, entre otros.

La afectación neurológica se caracteriza por las dificultades en la concentración y la tendencia a la distracción, trastornos visuoespaciales y enlentecimiento del pensamiento. También, se producen alteraciones de tipo frontal como: reducción en la capacidad para realizar secuencias, problemas para ordenar temporalmente un hecho autobiográfico, y dificultad en las tareas que requieren cambios o alteraciones⁽³⁾.

- **Demencia en la enfermedad de Huntington:** se trata de una demencia que se presenta formando parte de una degeneración selectiva de tejido cerebral a nivel de los ganglios basales. Es transmitida por un único gen autosómico dominante. Los síntomas surgen hacia la tercera o cuarta década de vida y la incidencia en ambos sexos es probablemente la misma. Los signos clínicos⁽⁸⁾ son muy variables y pueden incluir los siguientes: trastornos motores (corea, distonía, tics, mioclonías, etc.), trastornos cognitivos (amnesia, apatía, apraxia), trastornos de conducta (irritabilidad, hipersexualidad, desinhibición, agresividad, conductas adictivas). La evolución es lenta, llevando a la muerte normalmente al cabo de 10 a 15 años. Las pautas de diagnóstico son la asociación de movimientos coreiformes, demencia y antecedentes familiares de enfermedad de Huntington, aunque hay casos esporádicos. Los estudios con Tomografía Computerizada (TC) o la Resonancia Magnético Nuclear (RMN) muestran una atrofia selectiva del cuerpo estriado, la cabeza del núcleo caudado y el putamen, aunque no diferencian perfectamente esta enfermedad. En cambio, con la Tomografía Computerizada por Emisión de Positrones (TEP) y la Tomografía Computerizada por Emisión de Fotones Simples (SPECT), revelan una disminución del metabolismo glucídico o del flujo sanguíneo regional que

permiten hacer el diagnóstico antes incluso de la aparición de los síntomas clínicos de la enfermedad⁽³⁾.

- **Demencia en la enfermedad de Creutzfeld-Jakob (ECJ):** es una demencia progresiva con multitud de síntomas y signos neurológicos, debidas a alteraciones neuropatológicas específicas (encefalopatía espongiiforme subaguda), cuya supuesta etiología es un agente transmisible (prión)⁽⁹⁾. El inicio tiene lugar normalmente hacia los 50 años, aunque puede presentarse en cualquier momento. El curso es subagudo y lleva a la muerte en uno o dos años. Debe sospecharse de este tipo de enfermedad en los casos de demencia de evolución rápida, acompañada por múltiples síntomas neurológicos. Esta enfermedad suele presentar una parálisis espástica progresiva de los miembros, acompañada de síntomas extrapiramidales como temblor, rigidez y movimientos coreo-atetoides⁽³⁾.

Además de poderse clasificar las demencias en función de su origen, se pueden dividir en fases atendiendo a la clínica para orientar un tratamiento en un intento de retrasar la evolución de la enfermedad lo máximo posible. Para ello existen múltiples escalas de medición de la gravedad clínica. Una de las escalas más utilizadas en este sentido es la propuesta por Reisberg⁽¹⁰⁾ denominada Escala de Deterioro Global o GDS (*Global Deterioration Scale*) que se divide en 7 etapas, y que es más sensible para personas con enfermedad de Alzheimer ya que otros tipos de demencia no siempre incluyen pérdida de memoria.

Tabla 2- Escala global de deterioro para la evaluación de la demencia primaria degenerativa o Escala de *Global Deterioration Scale (GDS)*⁽¹⁰⁾.

Diagnóstico	Fase	Signos y síntomas
No existe demencia	Fase 1- sin deterioro cognitivo	En esta fase la persona tiene una función normal sin pérdida de memoria.
No existe demencia	Fase 2- deterioro cognitivo muy leve	Esta fase se utiliza para describir el olvido normal asociado con el envejecimiento (ej. Olvidarse de los nombres y de donde se ubican los objetos familiares). Los síntomas no son evidentes a lo seres queridos ni al médico.
No existe demencia	Fase 3- deterioro cognitivo leve.	Falta de memoria creciente, leve dificultad para concentrarse o disminuida actividad de trabajo. Estas personas pueden perder cosas a menudo o puede tener dificultad a la hora de encontrar las palabras correctas. En esta fase, la pareja de la persona empieza a fijarse en el deterioro cognitivo.
Demencia temprana	Fase 4- deterioro cognitivo moderado	Esta fase incluye dificultad de concentración, descenso de la memoria de eventos recientes y dificultad para manejar finanzas o viajar solo a nuevas localizaciones. Estas personas suelen tener problemas de eficiencia y precisión con tareas complejas y puede que no acepten los síntomas. Ellos pueden empezar a recluirse del contacto con la familia o amigos porque suelen tener problemas sociales. En esta etapa un

		médico puede notar problemas cognitivos muy claros durante la entrevista y evaluación del paciente.
Etapa media de demencia	Fase 5- deterioro cognitivo moderadamente severo	La gente en esta fase tiene deficiencias de memoria mayores y necesita ayuda para completar sus actividades diarias (vestir, bañar y preparar comida). La pérdida de memoria es más prominente y puede incluir aspectos más relevantes de sus vidas (ej. No se acuerdan de su dirección de casa o de su número de teléfono). Pueden no saber la hora o el día en la que se encuentran.
Etapa media de demencia	Fase 6- Deterioro cognitivo severo.	Las personas en esta fase requieren de ayuda extensiva para llevar a cabo sus actividades diarias. Ellos empiezan a olvidar nombres de familiares cercanos y tienen poca memoria de eventos recientes. Ellos pueden tener también dificultad en contar atrás desde 10 y en finalizar tareas. Pueden tener incontinencia urinaria o fecal. Suelen tener cambios de personalidad tales como delirio (creer algo que no es verdad), actividades compulsivas (repetir una actividad constantemente, como limpiar). Pueden tener ansiedad o agitación.

Demencia avanzada	Fase 7- Deterioro cognitivo muy severo	Las personas en esta fase no son capaces de hablar o comunicarse. Ellos requieren asistencia para la mayor parte de sus actividades (ej. Ir al baño o comer). A menudo tienen pérdidas psicomotoras, por ejemplo, caminar.
-------------------	--	--

En diversos estudios, para saber si los pacientes potencialmente elegibles tienen demencia o en qué fase de la misma están, utilizan la Clasificación Clínica de Demencia (*Clinical Dementia Rating- CDR*) de Hughes cuya puntuación abarca de 0 a 3 clasificando a los pacientes en: sanos, dudosos, leves, moderados y graves. Se evalúan áreas como la memoria, la orientación, el juicio y resolución de problemas, la vida social, el hogar y las aficiones y el cuidado personal.

Otro test también muy utilizado es el *Mini-Mental State Examination (MMSE)* ⁽¹¹⁾ cuya puntuación abarca de 0 a 30. Tiene 5 bloques de valoración: orientación temporo-espacial, fijación, concentración y cálculo, memoria y por último, lenguaje y construcción. Para establecer demencia, los puntos de corte específicos varían en función de la edad y el nivel de educación. El corte general está entre 23-24 o 24-25 así que los que tengan una puntuación inferior, serán clasificados como individuos con demencia.

1.2 Enfermedad de Alzheimer

La Organización Mundial de la Salud la define como una enfermedad cerebral primaria, de etiología desconocida, que presenta rasgos neuropatológicos y neuroquímicos característicos. El trastorno se inicia por lo general de manera insidiosa y lenta, evolucionando progresivamente durante un periodo de años. Se considera el tipo de demencia más común⁽¹²⁾, de hecho, en los países occidentales, la prevalencia de la enfermedad de Alzheimer aumenta desde el 1 al 3% en personas de 60 a 64 años, al 35%

en personas mayores de 85 años. Según la Fundación Alzheimer España ^(3,13), existen 700.000 casos en nuestro país con un posible incremento anual de 100.000 personas. El proceso neurodegenerativo es progresivo e irreversible y se caracteriza por déficits cognitivos como amnesia, apraxia, agnosia, afasia y disfunción ejecutiva, siendo una de las causas principales de muerte entre las personas mayores.

Como muchas otras enfermedades neurodegenerativas, la enfermedad de Alzheimer resulta de la formación de agregados no solubles, plegamiento anómalo o agregación de proteínas. En concreto, se caracteriza por depósitos proteínicos en forma de β -amiloide y de ovillos neurofibrilares⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾. Ambos agregados producen efectos tóxicos por alterar el funcionamiento neuronal y destruir progresivamente el tejido nervioso generando atrofia cortical y pérdidas de neuronas en el lóbulo temporal principalmente. La afectación en las distintas zonas no ocurre a la vez ya que existen zonas cuya afectación es temprana, entre ellas, el lóbulo temporal medial (MTL) y especialmente la Formación del Hipocampo (FH) y, singularmente, la corteza entorrinal (CE). Estas regiones cerebrales son cruciales en el procesamiento de la memoria episódica⁽¹⁶⁾. Posteriormente, se producirá pérdida neuronal en zonas subcorticales como en el núcleo basal de Meynert y el *locus coeruleus*.

Según la Clasificación Internacional de Enfermedades (CIE-10, 1992) en la demencia de tipo Alzheimer se encuentran los siguientes **síntomas** que pueden evaluarse mediante escalas o test en el caso de que sea necesario:

- Alteración para registrar, almacenar y recuperar información nueva.
- Pérdida de contenidos mnésicos, o memorizados, relativos a la familia o al pasado.
- La demencia es más profunda y anómala que una dismnesia o alteración patológica de la memoria.
- Existe reducción en el flujo de ideas.
- Existe deterioro en el proceso de almacenar información.
- Dificultad para prestar atención a más de un estímulo a la vez.
- Dificultad para cambiar el foco de atención asociada a:
 - A) Deterioro de memoria.

- B) Deterioro del pensamiento y razonamiento.
- C) Interferencia en la actividad cotidiana.
- D) Existe una conciencia clara inicialmente.

Según la Fundación Alzheimer España ⁽³⁾, existen tres formas para **diagnosticar** el Alzheimer:

- Diagnóstico “*in vivo*”: los pacientes deberán presentar:
 - A) Un cuadro demencial.
 - B) Un comienzo insidioso y un deterioro lento progresivo.
 - C) Ausencia de datos clínicos, o en las pruebas complementarias, que expliquen la demencia (por ejemplo, hipotiroidismo, hipercalcemia, deficiencia de vitamina B12, hematoma subdural, etc.)
 - D) Ausencia de signos neurológicos focales como hemiparesia, déficits sensoriales, falta de coordinación de movimientos, defectos del campo visual, entre otros.

Los criterios de diagnóstico de EA se han estandarizado y sus criterios son internacionales. Los más utilizados son los del Instituto Nacional de Enfermedades Neurológicas y de Comunicación (*National Institute of Neurological and Communitative Disorders*) y la Asociación de Accidentes Vasculares, Alzheimer y enfermedades relacionadas (*Stroke and Alzheimer's and Related Disorders Associaciacion*) de Estados Unidos (NINCDS-ADRDA) y los de la Asociación de Psiquiátrica Americana a través del desarrollo del manual de diagnóstico de enfermedades mentales (DSM-V)⁽¹⁷⁾. A continuación, se muestran de forma resumida los criterios recogidos en el DSM-V:

- A) Evidencia de un declive cognitivo sustancial desde un nivel previo de mayor desempeño en uno o más de los dominios cognitivos referidos:
 - 1) Declive sustancial en las funciones cognitivas, recogido por el propio individuo, un tercero o un facultativo.
 - 2) Declive en el desempeño neuropsicológico, implicando un desempeño en los test del rango de dos o más desviaciones

estándares por debajo de lo esperado en la evaluación neuropsicológica reglada o ante una evaluación clínica equivalente.

- B) Los déficits cognitivos son suficientes para interferir con la independencia (p. ej, requieren asistencia para las actividades instrumentales de la vida diaria, tareas complejas como manejo de medicación o dinero).
 - C) Los déficits cognitivos no ocurren exclusivamente en el contexto de un *delirium*.
 - D) Los déficits cognitivos no son atribuibles de forma primaria a la presencia de otros trastornos mentales (p. ej, trastorno depresivo mayor, esquizofrenia).
-
- Diagnóstico post-mortem: el diagnóstico en vida del paciente, actualmente, es muy difícil debido a la ausencia de marcadores específicos y sólo es posible un diagnóstico de “posible Alzheimer”. El diagnóstico de certeza se realiza post-mortem mediante un estudio anatomopatológico en el que se analiza la presencia de placas amiloideas y de ovillos neurofibrilares en las áreas más frecuentemente afectadas.
 - Pruebas complementarias: técnicas de diagnóstico por la imagen, electroencefalografía de nueva generación y determinación de marcadores bioquímicos periféricos.
 - A) Técnicas de neuroimagen:
 - 1) Resonancia nuclear magnética (RNM): técnica no invasiva, que puede aplicarse de forma repetitiva en un individuo. Es una de las pruebas más asequibles y sus resultados se consideran muy útiles para el diagnóstico, diagnóstico diferencial y seguimiento de la evolución. Es de gran utilidad para las fases más tempranas de EA y en la predicción de casos de “deterioro cognitivo leve” que podrían llegar a ser enfermos de Alzheimer según Morris et Al.
 - 2) Espectroscopia.

- 3) Tomografía de Emisión de Positrones (TEP) y la de emisión de fotones (SPECT).
- B) Electroencefalograma (EEG): es la medida de la actividad cerebral como reflejo de la actividad sináptica de ciertas neuronas. La pérdida o disfunción de la conectividad neuronal típica de la Enfermedad de Alzheimer es una teórica fuente de alteraciones del EEG. En los últimos años se ha mostrado su beneficio cuando se analizan adecuadamente frecuencias y amplitudes de ondas generadas en ciertas regiones corticales ya que se correlacionan adecuadamente con alteraciones clínicas, patológicas y bioquímicas.
- C) Marcadores bioquímicos: los marcadores patognomónicos de EA son de gran interés en aspectos como confirmación de diagnóstico, estudios epidemiológicos o valoración del progreso de la enfermedad y su tratamiento. Entre los más utilizados están: proteína tau (T-tau y P-tau), proteína β -amiloide ($A\beta_{42}$), proteína precursora de Amiloide (APP) entre otros. El interés principal de los investigadores es encontrar un marcador para el diagnóstico temprano porque los anteriormente comentados son una vez establecida la enfermedad. En la actualidad existe gran controversia sobre la utilidad y especificidad de los biomarcadores.

Una vez establecido el diagnóstico de “posible Alzheimer”, existen dos tipos de **tratamiento**⁽³⁾: el farmacológico y el no farmacológico.

Los fármacos más utilizados son los inhibidores de la colinesterasa (sus marcas comerciales son: Aricept®, Exelon®, Prometax®, Reminil®). Lo que hacen estos medicamentos es aumentar la concentración del neurotransmisor que está en deficiencia en la EA, la acetilcolina.

Más adelante se potenció la aparición de los antagonistas de receptores NMDA (N-metil-D-aspartato) debido al hecho de que una sobreexcitación de esos receptores estaba directamente implicada en la EA. Uno de esos medicamentos es la memantina (Ebixa®). Este fármaco es un derivado de la amantadina y es un antagonista no competitivo de los

receptores NMDA, lo que provoca una disminución de la facilitación intracortical y un aumento de la inhibición intracortical⁽¹⁸⁾.

Actualmente⁽¹³⁾ se han realizado un buen número de investigaciones centradas en los beneficios de las terapias de tipo no farmacológico cuyos objetivos principales se basan en paliar y ralentizar el declive cognitivo y físico, así como mantener o mejorar la calidad de vida del paciente con EA. Entre todas ellas, la que más destaca es el ejercicio físico.

1.3 Importancia del ejercicio físico en el deterioro cognitivo de la Enfermedad de Alzheimer

Diversos estudios han mostrado los beneficios de la práctica de ejercicio físico en varios aspectos: físico, cognitivo, calidad de vida, depresión, etc. Este estudio se va a centrar en los efectos en el aspecto cognitivo en personas con enfermedad de Alzheimer. Así mismo, se incluirán en la revisión los efectos en individuos con deterioro cognitivo leve, que se considera un estado preclínico de la EA, ya que Morris et al.⁽¹⁹⁾ descubrieron que esas personas progresaban hacia una demencia más severa en la escala CDR o tenían hallazgos post-mortem que confirmaban EA. Además, al hallarse en un estadio inicial, se pueden poner en práctica opciones terapéuticas que intenten mantener las mejores condiciones iniciales.

Un estudio de Paleschi et Al.⁽²⁰⁾ evidenció el efecto del ejercicio aeróbico en el aspecto cognitivo de los pacientes con enfermedad de Alzheimer. Para ello escogieron una muestra de 15 individuos con Alzheimer (diagnosticados con la GDS y los criterios de NINCDS-ADRDA) y les evaluaron sus capacidades cognitivas mediante el test de atención, test verbales y el MMSE. Después de recoger el estado inicial, realizaron un programa de ejercicio físico con un cicloergómetro 3 días a la semana a una intensidad del 70% de la frecuencia cardíaca máxima (FC_{máx}) durante 3 meses. Al finalizar el periodo de entrenamiento físico, los pacientes fueron sometidos a los mismos test mostrando una mejoría significativa en los resultados de los mismos.

El ejercicio físico también muestra tener efectos en la función cognitiva en individuos que tuvieran pérdida de memoria pero que no reflejasen más de 1 en la CDR (estadios previos a demencia). La medida cognitiva principal de este estudio⁽²¹⁾ fue la Escala de Evaluación de Enfermedad de Alzheimer (ADAS-Cog por sus siglas en inglés) que se registró antes, durante y después del programa de ejercicio físico. El programa que llevó a cabo el grupo intervención duró 18 meses y consistía en 150 minutos de ejercicio a la semana divididos en 3 sesiones/semana. La mayoría escogió andar como tipo de ejercicio, aunque algunos escogieron realizar un circuito de fuerza. Al finalizar el programa de ejercicio, en el grupo que realizó ejercicio físico se vieron mejoras significativas en ADAS-Cog y otros test cognitivos comparado con el grupo control.

Un estudio aleatorizado controlado⁽²²⁾ demostró que el ejercicio aeróbico tenía efectos cognitivos en 33 adultos (17 mujeres) con deterioro cognitivo leve amnésico con un promedio de 70 años. Los individuos fueron separados en un grupo control que realizaba estiramientos y en un grupo de intervención que realizaba ejercicio aeróbico con cinta, cicloergómetro o elíptica al 75-85% de frecuencia cardiaca de reserva (FC_{res}) durante 4 sesiones/semana de 45-60 minutos durante 6 meses. Las medidas principales del estado cognitivo eran test de función ejecutiva y test de memoria a corto plazo. Al finalizar los 6 meses del programa de ejercicio aeróbico, los individuos mejoraron en control ejecutivo y en la eficiencia en el procesamiento de la información. Cabe destacar que, si se introduce la variable del sexo en los resultados, las mujeres muestran más mejoras en la función ejecutiva que los hombres.

En la misma línea, un estudio⁽²³⁾ demostró mejoras en el aspecto cognitivo en individuos con la enfermedad de Alzheimer, diagnosticada mediante DSM-IV, tras 15 semanas de ejercicio físico realizando 3 sesiones por semana. Cada sesión incluía un programa de ejercicios diferente: 1 sesión de ejercicios de marcha, 1 sesión de equilibrio y 1 sesión de resistencia aeróbica a una intensidad del 60-70% de la FC_{res} . La medida principal del estudio fue el test de Rápida Evaluación de las Funciones Cognitivas (ERFC por sus siglas en francés) y mejoró significativamente en los individuos que realizaron ejercicio físico ($n=16$) con respecto a los del grupo control ($n=15$).

Tras la revisión, se ha podido observar que todos los estudios clínicos utilizan escalas para evaluación inicial y final del estado cognitivo de los pacientes. Solo uno de ellos ⁽²⁰⁾ utiliza una prueba de imagen, la tomografía computerizada, pero más como confirmación de diagnóstico que como método de valoración y seguimiento.

La resonancia magnética fue utilizada en un estudio⁽²⁴⁾ que medía el volumen cerebral antes y después de realizar ejercicio físico en personas mayores sin demencia. Los resultados mostraron que, tras realizar ejercicio aeróbico a intensidad moderada durante 6 meses, se aumentaban los volúmenes cerebrales de las cortezas prefrontales y temporales.

Este trabajo va a ir enfocado a comparar si hay diferencias volumétricas en resonancia magnética nuclear entre personas sanas y personas con demencia de tipo Alzheimer para comprobar si es un método diagnóstico adecuado. Concretamente, se analizará el lóbulo temporal medial que es el área encargada de la memoria.

1.4 Importancia funcional del lóbulo temporal medial

El lóbulo temporal medial (LTM) está localizado en el aspecto ventromedial del lóbulo temporal. Está compuesto por la amígdala, el hipocampo y las cortezas colindantes, incluyendo las cortezas temporopolar, entorrinal, perirrinal y parahipocámpica posterior⁽²⁵⁾. Estas estructuras están interconectadas siguiendo una organización topográfica.

La porción más rostral del LTM, conocida como polo temporal o corteza temporopolar (CTP), es una región completamente formada por corteza que está encerrada en la parte anterior de la fosa craneal media. La CTP juega un papel importante en funciones cognitivas como la memoria y el aspecto emocional de los procesos perceptivos⁽²⁶⁾.

Las caras ventral y medial del lóbulo temporal están organizadas en bandas, con dos surcos prominentes con una orientación rostrocaudal. El más lateral de los dos, es el surco occipitotemporal, que normalmente se parte formando el giro transverso. El surco más medial, y el que más asociado está con la formación hipocámpica, es el surco colateral. Estos dos surcos forman el borde lateral del giro parahipocámpico, que es una

compleja región que contiene a las cortezas perirrinal, entorrinal y parahipocámpica posterior⁽²⁷⁾.

La corteza perirrinal (CP) es una región cortical presente en la parte anterior medial del LTM, comprende las áreas 35 y 36 de Brodmann. La CP recibe aferencias de las cortezas de asociación sensorial, y manda eferencias a la corteza entorrinal, al subículo y al *cornu amonnis 1 (CA1)*. Debido a sus conexiones, la CP juega un papel importante en la memoria, en concreto en las memorias episódica y semántica, y los procesos de percepción visual. Además, es una región importante para observar efectos tempranos de la EA en el cerebro, ya que la CP, es el primer lugar del cerebro en ser afectado por los ovillos neurofibrilares⁽²⁸⁾.

La corteza entorrinal (CE) ocupa la mayor parte del giro parahipocámpico y, es bordeada dorsomedialmente por la corteza periamigdalóidea y caudomedialmente por el presubículo y el parasubículo. Lateralmente, se extiende al borde medial del surco colateral donde la rodea la CP⁽²⁹⁾. La CE, junto a la corteza parahipocámpica posterior y el hipocampo, juega un papel importante en distintos aspectos de procesamiento de la memoria espacial.

Durante años, se ha creído que el hipocampo es el componente más crítico del sistema de memoria del lóbulo temporal medial. Sin embargo, se ha demostrado que el daño en las cortezas perirrinal y entorrinal también puede causar deterioro de memoria en primates⁽²⁹⁾.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1 Hipótesis

Las diferencias volumétricas en las cortezas temporopolar (TPC), entorrinal (EC) y perirrinal (PC) entre ancianos, sujetos con Deterioro Cognitivo Leve y enfermos de Alzheimer, evaluadas con RM, sirven como coadyuvante al diagnóstico *in vivo* de dicha enfermedad.

2.2 Objetivo principal

Conocer el papel de la resonancia magnética nuclear en el diagnóstico del deterioro en pacientes con Alzheimer.

2.3 Objetivos secundarios

- Comparar los volúmenes de la corteza temporopolar entre el grupo control, el grupo de Deterioro Cognitivo Leve y el grupo Alzheimer.
- Comparar los volúmenes de la corteza perirrinal entre el grupo control, el grupo de Deterioro Cognitivo Leve y el grupo Alzheimer.
- Comparar los volúmenes de la corteza entorrinal entre el grupo control, el grupo de Deterioro Cognitivo Leve y el grupo Alzheimer.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Selección de la muestra

Para el estudio se incluyeron 15 sujetos: 5 con Deterioro Cognitivo Leve (DCL), 5 con Enfermedad de Alzheimer del Departamento de Geriátría del Complejo Hospitalario Universitario de Albacete, y 5 controles con edades similares.

Todos los participantes firmaron el consentimiento informado previa a su inclusión en el estudio.

Se recogieron datos demográficos en la entrevista inicial, se realizó una revisión física y neurológica. Además, se realizaron evaluaciones neuropsicológicas y una prueba de RM de 1.5 teslas, analítica sanguínea donde se evaluaron: hemograma completo, bioquímica, hormonas tiroideas, vitamina B12, ácido fólico para excluir otras causas de demencia.

Como diagnóstico de demencia se utilizaron los criterios recogidos en el DSM-IVr y diagnóstico de demencia del NINCDS/ADRA (*National Institute of Neurologic and Communicative Disorders and Stroke and Alzheimer's Disease and Related Disorders Associations*).

Para el diagnóstico de los pacientes con DCL se siguieron los criterios propuestos por el Centro de Investigación de la Enfermedad de Alzheimer de la Clínica Mayo.

La severidad del deterioro cognitivo fue evaluada de acuerdo al GDS (*Global Deterioration Scale of Reisberg*).

El criterio de exclusión fijado fue la presentación de demencia de otro origen.

3.2 Identificación de los bordes de las cortezas temporopolar, entorrinal y perirrinal

Previo al análisis volumétrico, es necesaria la determinación de los bordes de las cortezas temporopolar, entorrinal y perirrinal en resonancias magnéticas. Para la identificación de los límites se utilizará el protocolo de Insausti et al. ⁽²⁹⁾.

3.2.1 Corteza temporopolar

La CTP se extiende rostrocaudalmente desde el comienzo del lóbulo temporal hasta la aparición del surco colateral (SC), momento que marca la CP sustituye a la CTP. Su límite dorsolateral lo marca el *fundus* del surco temporopolar (STP), con su correspondiente giro de Schwalbe. En este punto hay dos posibles excepciones:

- Puede darse la situación de que aparezcan dos surcos temporopolares (asociados a 2 giros de Schwalbe), en cuyo caso el límite dorsolateral se extenderá hasta la punta del *fundus* del surco temporopolar más lateral.
- Si no se encuentra presente el surco temporopolar, el límite dorsolateral se encontrará en el punto medio del aspecto dorsal del polo temporal.

El límite ventrolateral se encuentra definido en el borde medial del surco temporal superior hasta que aparece el surco temporal inferior. Cuando éste último aparece, el límite ventrolateral se encuentra a lo largo de su borde medial. En el caso de que no aparezcan ni el surco temporal superior ni el inferior, el límite ventrolateral lo compondrá el punto medio del aspecto ventral del polo temporal.

3.2.2 Corteza perirrinal

Rostralmente, el punto de referencia más admitido es la aparición del surco colateral. En concreto, se puede apreciar una bifurcación de la sustancia blanca en el aspecto ventromedial del lóbulo temporal.

El límite caudal de la CP puede ser identificado utilizando el final de la corteza entorrinal, al nivel del giro intralímbico. En estudios histológicos se vio que la CP rodea a la CE durante una media de 2,9 mm, en los que no tiene puntos de referencia anatómicos. Consecuentemente, en la parte más caudal, la CP bordea el parasubiculo durante una distancia de 2 a 4 mm. Finalmente, es sustituida por la corteza parahipocámpica posterior.

El límite dorsal lo compone el *fundus* del STP. Si para entonces el límen de la ínsula ya ha aparecido, el borde dorsomedial lo compondrá el punto más medial del giro parahipocámpico.

El límite ventromedial va a depender de la profundidad del surco colateral:

- Si el surco es regular (1-1,5 cm): el límite se sitúa justo en el borde lateral del surco colateral.
- Si el surco es llano (<1 cm): la corteza perirrinal se extiende hasta el punto medio del giro occipitotemporal.
- Si el surco es profundo (> 1,5 cm): el borde recae dentro del borde lateral del surco colateral, normalmente en su punto medio.

3.2.3 Corteza entorrinal

El límite rostral está asociado a la aparición del límen de la ínsula en una media de 2mm, es decir, una imagen de resonancia magnética posterior a su aparición.

Caudomedialmente, la corteza entorrinal bordea la fisura hipocámpica en su punta más ventral. En su parte más caudal, la corteza entorrinal se suele juntar con el presubículo y parasubículo haciendo que sea difícil la identificación de su límite caudal. Está aceptado que se fije el límite caudal una imagen de resonancia magnética posterior a la desaparición de la corteza perirrinal.

El límite dorsomedial se define en el borde ventral del giro semilunar que corresponde con el *fundus* del surco semianular. En el caso de que no haya aparecido el surco semianular, se fijará el límite en el punto más medial del giro parahipocámpico.

El límite ventrolateral va a depender de la profundidad del surco colateral:

- Si el surco es regular (1-1,5 cm): el límite se sitúa dentro del borde medial del surco colateral, a la mitad aproximadamente.
- Si el surco es llano (<1 cm): el límite entre ambas estará localizado en el *fundus* del surco colateral.
- Si el surco es profundo (> 1,5 cm): el límite recaerá dentro del borde lateral del surco colateral.

En el caso de que aparezcan dos surcos colaterales, el elegido para marcar el límite será el más medial.

3.3 Bases teóricas de la estereología

La estereología es una metodología coherente que combina la geometría estocástica y la estadística para cuantificar las propiedades geométricas de objetos de interés, generalmente tridimensionales (3D), utilizando información adecuadamente muestreada y basándose en principios generales de análisis sencillos. Es una herramienta precisa que permite la obtención de información en 3D de las estructuras a partir de secciones en dos dimensiones (2D). De esta forma, se puede hacer una descripción de estructuras biomédicas, combinando indicaciones matemáticas y estadísticas, para “estimar” sus parámetros en 3D, basados en observaciones 2D a través de secciones realizadas sobre estos objetos y estructuras cuya forma es, o puede ser, completamente arbitraria⁽³⁰⁾.

Al principio de 1960, los biólogos de la Sociedad Internacional de Estereología aprendieron los principios y prácticas de estereologías usados durante siglos por miembros de campos científicos y geológicos. Uno de los primeros conceptos que utilizaron es el Principio Cavalieri. Este principio establece un método no sesgado para estimar los volúmenes regionales de objetos orgánicos, basados en secciones uniformes al azar a través de los objetos. Específicamente, el Principio Cavalieri de los Indivisibles expone que cualquier volumen de materia está contenido dentro de un número infinito de planos paralelos, los cuales, cuando están apilados juntos, forman el volumen en cuestión.

En contraste con el enfoque euclídeo, la teoría de los indivisibles no necesita ningún requisito sobre la forma del volumen, solo que los planos sean paralelos.

Como se muestra en la **Figura 1**, el volumen de referencia (V_{ref}) contenido dentro de una columna de monedas puede ser determinado por la forma Euclídea para el volumen de un cilindro (solamente en la fotografía de la izquierda), y por la forma de Cavalieri,

con el producto de la suma de las áreas de cada moneda (ΣA) y la distancia entre la cara de cada moneda (T)⁽³¹⁾.



Figura 1- Teoría de los Indivisibles. Estimación volumétrica de forma clásica (izquierda) y de forma arbitraria (derecha).

El siguiente ejemplo de un estudio publicado⁽³²⁾, validó el método de estimación de conteo de puntos de Cavalieri comparándolo con el método *Gold Standard* de la volumetría, el principio de Arquímedes. Para ello, se obtuvieron 30 cerebros cortados sagitalmente (un solo hemisferio) que se introdujeron en formol por un período de tiempo. Para medir el V_{ref} , cada muestra cerebral se sumergió en un tubo grande lleno de agua y se equipó con una válvula de rebose y un frasco de medición calibrado. Después de introducir cada muestra, se registró el agua desplazada por cada uno de ellos. Una vez hecho esto, se procedió a hacer cortes coronales de las muestras cerebrales para realizar la estereología Cavalieri. Tras realizar el proceso de medición, se llevó a cabo la ecuación estimada de V_{ref} . La volumetría de Arquímedes y la de Cavalieri tuvieron una correlación alta ($r=0.86$) demostrando la eficacia del último en comparación con el *Gold Standard*.

En aplicaciones actuales de estereología orgánica, el Principio Cavalieri, ofrece un método preciso, exacto y eficiente para la estimación volumétrica de objetos biológicos⁽³²⁾.

3.4 Análisis volumétrico

Se llevó a cabo un análisis de volumetría en resonancias magnéticas de 15 sujetos. A cada sujeto se le midieron 6 variables: volumen de la corteza temporopolar, volumen de la corteza perirrinal y volumen de la corteza entorrinal; en ambos hemisferios.

Los 15 sujetos estaban realmente divididos por grupos de enfermedades: grupo Control, grupo Alzheimer y grupo EA leve. No obstante, en el momento de las mediciones, el investigador estaba cegado y no sabía a quiénes pertenecían dichas resonancias.

Para la medición se utilizó el método estereológico de conteo de puntos a través de un software conocido como Image J. Este programa informático permitía la inclusión de la secuencia de resonancias magnéticas, y, además, aportaba una plantilla cuadrículada para realizar el conteo. En este caso, por punto se entiende a la zona donde cortan las dos perpendiculares y, la cuadrícula, conforma el área asociada a cada punto (**Figura 2**).

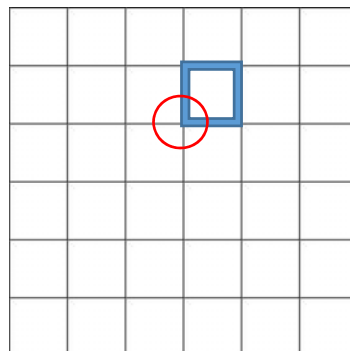


Figura 2- Representación del punto (rodeado en rojo) y el área asociada a cada punto (señalada en azul).

El tamaño del área asociada a cada punto se reguló en función de la corteza cerebral que se medía, ya que, se necesitaba un mínimo de entre 60 y 100 puntos para que la ecuación de estimación fuese sensible. En más de la mitad de los casos, la cuadrícula utilizada fue de 0.10cm^2 para la corteza temporopolar, 0.15cm^2 para la corteza perirrinal y 0.05cm^2 para la corteza entorrinal. En algunos casos, debido al adelgazamiento de la corteza, hubo que bajar el tamaño de la cuadrícula para que hubiera más puntos. (**Figura 3**).

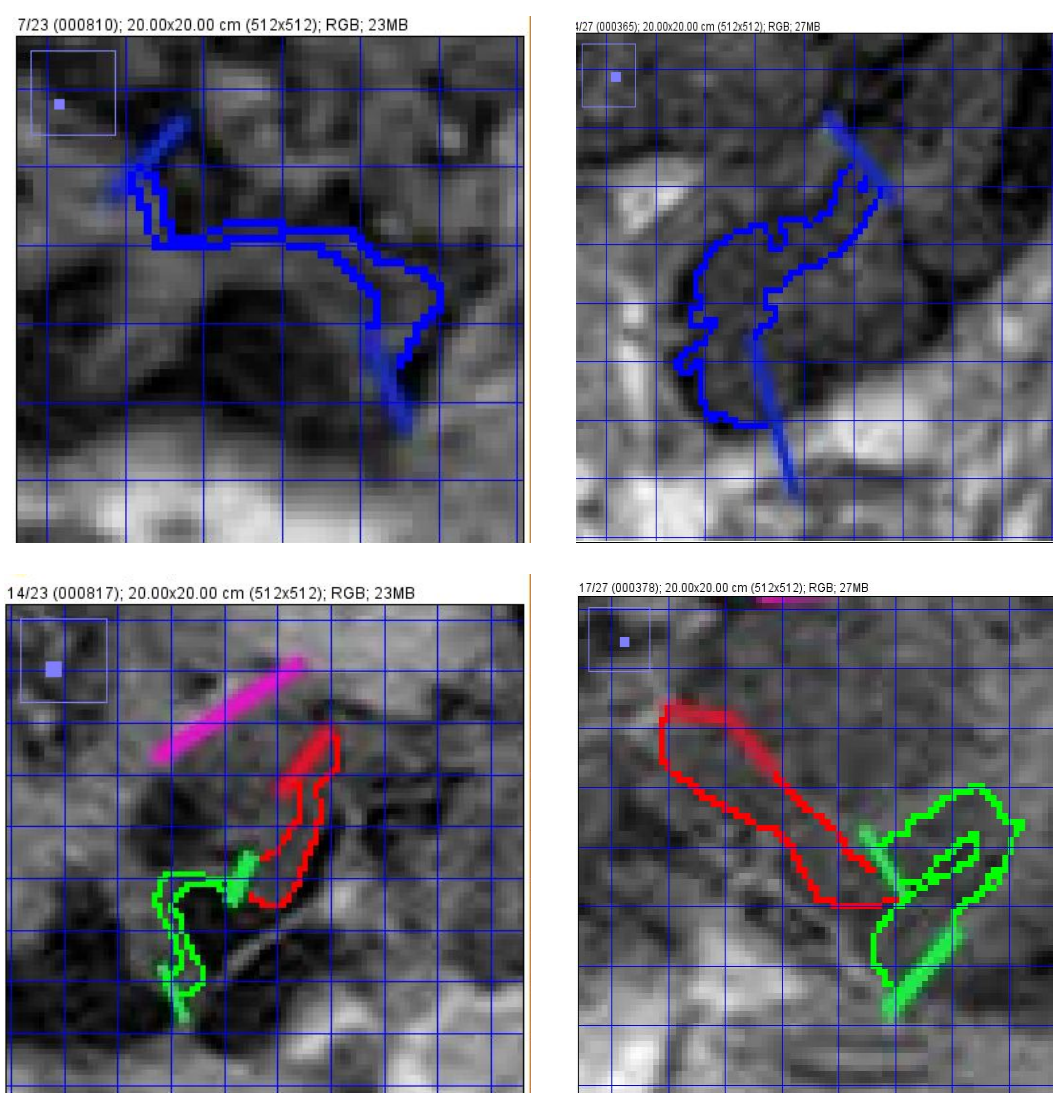


Figura 3- Comparación de corteza temporopolar (azul) delgada (izquierda) y estándar (derecha). Comparación de cortezas perirrinal (verde) y entorrinal (roja) delgadas (izquierda) y estándares (derecha).

El proceso era el mismo con todas las cortezas y con todos los casos. En primer lugar, se insertaba la secuencia de imágenes del caso y se calibraban las mediciones del programa. Para calibrarlo había que introducir una medida conocida, en este caso se introdujo la anchura de las resonancias, es decir, 20 centímetros. A continuación, se fijaba el tamaño de la cuadrícula adecuándose a las características de cada corteza. Seguidamente, se contorneaba la corteza en cuestión y, por último, se procedía al conteo de puntos.

Una vez finalizado el conteo de puntos de cada corteza y de lado, se llevaba a cabo el cálculo del volumen a través de una fórmula de estimación siguiendo el Principio de Cavalieri. La fórmula matemática era: $estV_{Corteza} = t \cdot (a/p) \cdot \sum P_{Corteza}$.

$\sum P$ es el número de puntos contados en la corteza en un corte de RM, (a/p) es el área asociada a cada punto y t , es el grosor de cada RM.

Los volúmenes se expresaron en mm³.

3.5 Análisis estadístico

Los datos volumétricos fueron analizados usando el software *IBM SPSS Statistics* para Windows (versión 20).

En primer lugar, se analizaron la normalidad de los datos y la homogeneidad de las varianzas para determinar el tipo de comparación de medias a utilizar posteriormente. Tras la realización de los procesos mencionados, se determinó que la muestra estaba conformada por variables normales independientes y, por tanto, era necesario hacer una ANOVA para la comparación de repetidas mediciones de lado (I, no I) por cada grupo (Alzheimer, EAleve, Control). Además de la ANOVA, se realizó un análisis POST HOC para observar la significación concreta inter-grupos.

Los resultados son expresados como media \pm desviación estándar de la media. El nivel de significación estadística se fijó en $P < 0.05$.

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1 Volumetría en RM de las cortezas temporopolar, perirrinal y entorrinal.

4.1.1 Aspectos generales

La media de imágenes de resonancia magnética que comprendía la corteza temporopolar era de 7.73 en el lado I (rango de 4 a 10) y de 7.73 en el lado no I (rango de 4 a 9). La extensión media de la corteza perirrinal fue de 16.87 imágenes en el lado I (rango de 15 a 20) y de 16.80 en el lado no I (rango de 15 a 22). La prolongación media de la corteza entorrinal fue de 12.33 imágenes en el lado I (rango de 10 a 15) y de 13.13 en el lado no I (rango de 11 a 16).

Tabla 3- Volúmenes del lado I y no I de las cortezas temporopolar, perirrinal y entorrinal en los grupos Alzheimer, Control y EA leve

		Alzheimer	Control	EA leve
Corteza temporopolar	Lado I	1254±298.23	1713±240.56	1597±245.33
	Lado no I	1183±415.02	1377±193.79	1432±276.59
Corteza perirrinal	Lado I	1689±316.18	1906±479.60	1885±269.71
	Lado no I	1465±465.17	1689±442.73	1647±210.71
Corteza entorrinal	Lado I	652.50±201.59	904.50±191.62	727.50±93.37
	Lado no I	664.50±188.22	937.50±177.32	669±95.66

Nota: los resultados están representados como media \pm desviación estándar. Los volúmenes están expresados en mm³.

4.1.2 Corteza temporopolar

La ANOVA (TABLA 4) para repetidas mediciones por lado (lado I y no I) y por grupo (Alzheimer, EA leve y Control) mostró reducción significativa del volumen entre los grupos ($P = .043$). El análisis POST HOC (TABLA 5) mostró que la significación se debía a las diferencias entre el grupo de Alzheimer y el grupo Control en el lado I ($P = .042$), no siendo así en el lado no I ($P = .596$). No se observaron diferencias significativas entre el

grupo Alzheimer y EA leve en ninguno de los dos lados (Lado I, $P = .139$; Lado no I, $P = .435$). De la misma manera, tampoco se encontraron diferencias significativas entre el grupo Control y EA leve ni en el lado I ($P = .771$) ni en el lado no I ($P = .957$).

4.1.3 Corteza perirrinal

La ANOVA no mostró diferencias significativas en las comparaciones volumétricas de ninguno de los grupos (Lado I, $P = .598$; Lado no I, $P = .640$). Concretamente el análisis POST HOC mostró que entre el grupo Alzheimer y el grupo Control el P valor fue 0.627 en el lado I y 0.647 en el lado no I. Entre el grupo Alzheimer y EA leve los valores de la P fueron 0.682 en el lado I y 0.748 en el lado no I. Finalmente, el valor de la P entre el grupo Control y EA leve fue 0.995 en el lado I y 0.984 en el lado no I.

4.1.4 Corteza entorrinal

La ANOVA mostró reducción significativa del volumen entre los grupos ($P = .029$) en el lado no I, no siendo así en el grupo I ($P = .093$). Las pruebas POST HOC demostraron que la significación era debida a las diferencias volumétricas entre el grupo Alzheimer y el grupo Control ($P = .046$). En el lado I no se mostraron diferencias significativas entre ambos grupos ($P = .086$). Entre el grupo Alzheimer y EA leve los valores de la P fueron 0.768 en el lado I y 0.999 en el lado no I. Por último, el valor de la P entre el grupo Control y EA leve fue 0.263 en el lado I y 0.05 en el lado no I.

Tabla 4- ANOVA para repetidas mediciones por lado (I y no I) y por grupo (Alzheimer, Control, EA leve).

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Volumen TPC Lado I	Inter-grupos	570022,500	2	285011,250	4,131	,043
	Intra-grupos	828000,000	12	69000,000		
	Total	1398022,500	14			
Volumen TPC Lado No I	Inter-grupos	170872,500	2	85436,250	,896	,434
	Intra-grupos	1143675,000	12	95306,250		
	Total	1314547,500	14			
Volumen PC Lado I	Inter-grupos	143932,500	2	71966,250	,536	,598
	Intra-grupos	1610932,500	12	134244,375		
	Total	1754865,000	14			
Volumen PC Lado No I	Inter-grupos	141097,500	2	70548,750	,463	,640
	Intra-grupos	1827180,000	12	152265,000		
	Total	1968277,500	14			
Volumen EC Lado I	Inter-grupos	167430,000	2	83715,000	2,918	,093
	Intra-grupos	344317,500	12	28693,125		
	Total	511747,500	14			
Volumen EC Lado No I	Inter-grupos	244402,500	2	122201,250	4,822	,029
	Intra-grupos	304087,500	12	25340,625		
	Total	548490,000	14			

Tabla 5- Análisis POST-HOC tipo Tukey para la significación concreta inter-grupos.

Variable dependiente		(I) Enfermedad	(J) Enfermedad	Sig.
Volumen TPC Lado I	HSD de Tukey	Alzheimer	Control	,042
			EA leve	,139
		Control	Alzheimer	,042
			EA leve	,771
		EA leve	Alzheimer	,139
			Control	,771
Volumen TPC Lado No I	HSD de Tukey	Alzheimer	Control	,596
			EA leve	,435
		Control	Alzheimer	,596
			EA leve	,957
		EA leve	Alzheimer	,435
			Control	,957
Volumen PC Lado I	HSD de Tukey	Alzheimer	Control	,627
			EA leve	,682
		Control	Alzheimer	,627
			EA leve	,995
		EA leve	Alzheimer	,682
			Control	,995
Volumen PC Lado No I	HSD de Tukey	Alzheimer	Control	,647
			EA leve	,748
		Control	Alzheimer	,647
			EA leve	,984
		EA leve	Alzheimer	,748
			Control	,984
Volumen EC Lado I	HSD de Tukey	Alzheimer	Control	,086
			EA leve	,768
		Control	Alzheimer	,086
			EA leve	,263
		EA leve	Alzheimer	,768
			Control	,086
Volumen EC Lado No I	HSD de Tukey	Alzheimer	Control	,046
			EA leve	,999
		Control	Alzheimer	,046
			EA leve	,050
		EA leve	Alzheimer	,999
			Control	,050

5. DISCUSIÓN

5. DISCUSIÓN

Este trabajo pretendía dilucidar si la resonancia magnética era un factor coadyuvante al diagnóstico *in vivo* del DCL y de la EA, a través de la estimación volumétrica de las cortezas involucradas en la pérdida de memoria y déficits cognitivos. Uno de los principales hallazgos encontrados tras el análisis es que, el volumen de la corteza temporopolar y entorrinal se reducen significativamente con la Enfermedad de Alzheimer.

5.1 Factores metodológicos y biológicos que influyen en el análisis volumétrico

Existen factores metodológicos y biológicos que explican que algunas diferencias entre los grupos no sean significativas.

Uno de los factores metodológicos que influye, es la colocación de los límites de las cortezas, ya que una variación de milímetros, puede afectar al sistema estereológico de medición por puntos causando una sobre o subestimación de los datos.

De hecho, Insausti et al. ⁽²⁹⁾ observaron una variabilidad interindividual remarcable en secciones histológicas en la forma de surcos y giros que son utilizados para definir los límites de las cortezas. Estos datos sugieren que las variaciones biológicas entre de los individuos explican la mayoría de la variabilidad en la volumetría en RMN.

Otro factor que influye es la fórmula utilizada para estimar los volúmenes, ya que requiere la medición de 60 a 100 puntos para que sea sensible. En ocasiones, debido al tamaño de la sustancia gris de la corteza, para poder cubrir esos requerimientos metodológicos, la densidad de la plantilla era tal que no permitía ver el tejido. Esto hace que, el error debido al método pueda aumentar más de un 5-7%, y aumente el coeficiente de variación.

Un elemento importante que interviene, es la aparición de casos atípicos en los grupos, ya que, al estar tan distanciados de la mediana (2º cuartil), provocan que los datos sean heterogéneos, disminuyendo la significación. En la Figura 4 se muestran los datos volumétricos de cada grupo divididos por cuartiles (1º, 2º y 3º). Un caso relevante es el

caso 4 (Enf. Alzheimer) del apartado C de la Figura 4, puesto que tiene un valor de 2070 mm³, muy por encima del 75% de los datos (1507.50 mm³).

5.2 La resonancia magnética y el ejercicio físico

En el presente estudio se ha reconocido la eficacia de la estereología como método de detección de reducción significativa de volumen en las cortezas entorrinal y temporopolar en pacientes con Alzheimer y, por lo tanto, se puede asumir que es un método válido para actuar como coadyuvante en el diagnóstico *in vivo* de dicha enfermedad. No obstante, el presente estudio busca al mismo tiempo, la posible aplicación de la resonancia magnética como herramienta de seguimiento de la evolución de tratamiento no farmacológico.

Para reforzar esta suposición, consta el estudio de Colcombe et al. ⁽²⁴⁾ en el que se evidenció como la resonancia magnética detectaba aumentos de volumen cerebral en la corteza temporal en personas sanas tras realizar ejercicio aeróbico tras 6 meses.

Las preguntas que pueden surgir en este punto es por qué se producen mejoras volumétricas y si éstas se producirían en pacientes con DCL o EA. Por una parte, y como se vio en la revisión de literatura, no hay estudios que hayan utilizado la resonancia magnética para comprobar cambios volumétricos tras la realización de ejercicio físico en personas con EA. Por otra, existen diversos argumentos que pueden explicar el aumento de volumen y las mejoras en el estado cognitivo en personas con Alzheimer tras realizar actividad física.

5.3 Efectos del ejercicio físico en la plasticidad cerebral

El ejercicio físico, sobre todo de tipo aeróbico, es el causante de activar la maquinaria molecular de regeneración del cerebro, la plasticidad cerebral. Precisamente esta neuroplasticidad es la que promueve la generación de neuronas y el crecimiento volumétrico de las cortezas. Es posible, por tanto, que la mayoría de los beneficios de la actividad física giren en torno a la activación de este proceso cerebral.

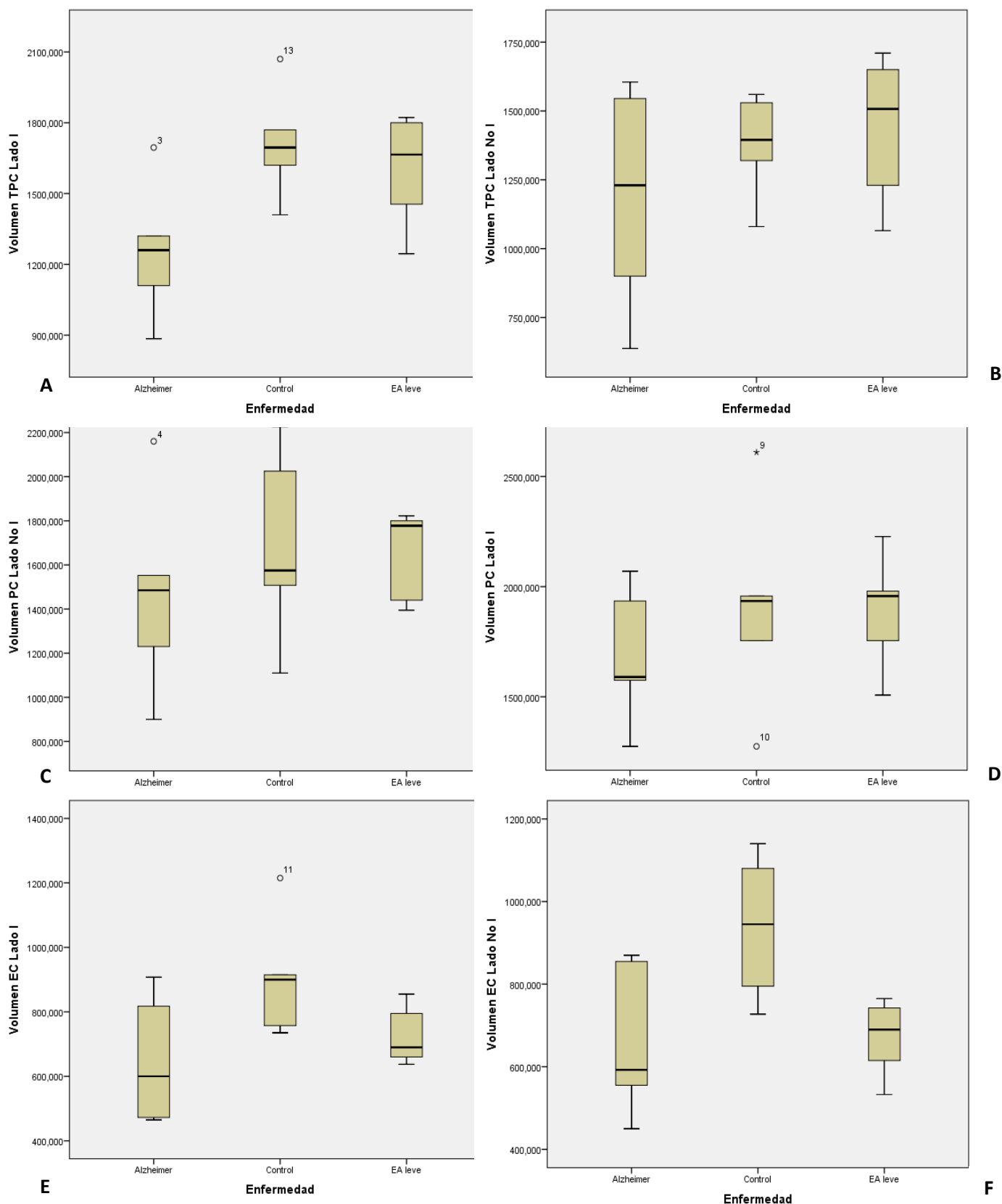


Figura 4- Gráficos Q-Q de los volúmenes de las cortezas distribuidas por lado y por grupo.

Una de las mejoras que produce el ejercicio físico consiste en el aumento del flujo sanguíneo cerebral y, como consecuencia, el aumento de la actividad neuronal y del metabolismo, favoreciendo el correcto funcionamiento de este mecanismo, que garantiza el aporte adecuado de oxígeno al cerebro⁽¹³⁾.

Por otro lado, la realización de ejercicio aeróbico activa cascadas moleculares y celulares que fomentan la ya comentada neuroplasticidad, que, a su vez, provoca expresión de genes como el que codifica el factor neurotrófico del cerebro (*BNDF* en inglés)⁽³³⁾. Este factor provoca vascularización cerebral, neurogénesis y cambios funcionales y estructurales en las cortezas cerebrales⁽³⁴⁾.

La acetilcolina también juega un papel importante en la regulación de muchas actividades cognitivas y de comportamiento y, habitualmente se ve disminuida su concentración en la Enfermedad de Alzheimer. El metabolismo de los hidratos de carbono es importante en la síntesis de este neurotransmisor. Por ello, la mejora de la oxidación de los glúcidos con el ejercicio físico causará una mayor síntesis de acetilcolina y, por otra parte, estimulará la expresión de factores neurotróficos y fomentará la sinaptogénesis en regiones relacionadas con la memoria⁽¹³⁾.

5.4 Ejercicio físico como propuesta de tratamiento no farmacológico

Son varios los estudios que han probado la eficacia del ejercicio físico en la mejora del estado cognitivo en pacientes con demencia^(20,21,22,23,35,36,37,38).

Como ya se ha argumentado antes, el ejercicio aeróbico mejora el flujo sanguíneo y activa factores neurotróficos lo que, en definitiva, provoca un retraso en el deterioro de las zonas cerebrales encargadas de las funciones cognitivas. Esto se ha observado en varios estudios, como el de Paleschi et al.⁽²⁰⁾ o el de Baker et. al,⁽²²⁾ en los que se demostró cómo tras ejercicio aeróbico a intensidad moderada, los pacientes con demencia mejoraban su función cognitiva. En ambos estudios se hacía un mínimo de 3 a 4 sesiones semanales que se extendían un mínimo de 3 meses. Menos tiempo necesitaron Kemoun et al.⁽²³⁾ y Rolland et al.⁽³⁵⁾ para encontrar mejoras en el aspecto cognitivo: 15 y 7 semanas de ejercicio aeróbico respectivamente, realizando 3 sesiones por semana. En la misma línea, el estudio de Lautenschlager et al.⁽²¹⁾ reconoció la efectividad del ejercicio aeróbico en las mejoras cognitivas en pacientes con Alzheimer

tras 18 meses. Cabe mencionar que dentro del grupo intervención, algunos de los sujetos realizaron un circuito de fuerza en lugar de ejercicio de resistencia aeróbica, mostrando igualmente diferencias significativas con respecto al grupo control. Aquí surge la controversia, ya que, tanto Vaughan et al. ⁽³⁶⁾ como Christoforetti et al. ⁽³⁷⁾ produjeron mejoras utilizando ejercicios multimodales y multidisciplinarios que incluían resistencia aeróbica, fuerza o ejercicios de coordinación. No obstante, Martins Vital et al. ⁽³⁸⁾ no consiguieron efecto en las funciones cognitivas tras 3 sesiones semanales de ejercicios de resistencia de fuerza durante 16 semanas.

La propuesta de este trabajo sobre la práctica de ejercicio en personas con demencia es la siguiente:

- Los sujetos participantes deberán someterse a un examen físico para conocer su estado cardiovascular inicial y para determinar factores de riesgo cardiovascular.
- Resonancia magnética cerebral pre-intervención + análisis volumétrico de áreas relacionadas con la memoria.
- Se utilizarán test neuropsicológicos como el MMSE u otros criterios diagnósticos (ADAS-Cog o DSM-V) para conocer el estado cognitivo inicial.
- Ejercicio aeróbico (marcha, tapiz rodante, elíptica, natación) aislado o combinado con ejercicios multimodales (fuerza, equilibrio, flexibilidad).
- Frecuencia semanal mínima de 2 a 3 sesiones. Preferiblemente 4 sesiones semanales.
- Duración de la sesión: mínimo 30 minutos.
- Intensidad: 65-70%FCM. La mayoría de estudios trabajaban a una intensidad moderada.
- Duración de la intervención: 3 meses. Aunque algunos estudios han demostrado que 2 meses de intervención ya son suficientes para producir respuestas significativas.
- Resonancia magnética a la mitad de la intervención (6 semanas) + análisis volumétrico.
- Resonancia magnética al final de la intervención (3 meses) + análisis volumétrico.
- Se utilizarán los mismos test y criterios diagnósticos para observar posibles mejoras.

La aplicación de este protocolo puede ser útil en pacientes con DCL y EA, sin embargo, hay que tener en cuenta las limitaciones que pueden aparecer en cuestiones como el trato con el paciente y en el análisis volumétrico en RM.

En algunos casos, los pacientes con EA y DCL pueden encontrar dificultades para entender las tareas. Por ello, es posible que algunos sean capaces de seguir instrucciones sencillas y a otros les sea más fácil la imitación visual.

Otra dificultad puede surgir en el aprendizaje de nuevas habilidades, por lo que se deberán buscar tareas repetitivas y estructuradas para favorecer su automatización e integración. Además, se debe considerar el ambiente como parte importante del tratamiento, ya que, una situación confortable, cálida y con música puede facilitar la adherencia de los pacientes.

Para la valoración volumétrica se necesitan conocimientos teóricos previos de las áreas relacionadas con la memoria, además de un entrenamiento visual de las mismas en RM.

Asimismo, se precisa de investigadores con conocimiento básico de la estereología, del método de conteo de puntos y de la fórmula de estimación, así como de programas informáticos estadísticos, de procesamiento de imágenes y hojas de cálculo para llevar a cabo el análisis volumétrico. Dichos investigadores deben ser capaces de realizar este proceso con solvencia en varios momentos del tratamiento para calibrar las diferencias volumétricas al inicio, a la mitad y al final de la intervención física.

6. CONCLUSIÓN

6. CONCLUSIÓN

1. En la Enfermedad de Alzheimer existe una reducción significativa del volumen de ciertas áreas como las cortezas temporopolares y entorrinales, relacionadas con los procesos de memoria.
2. El análisis volumétrico de dichas áreas cerebrales sobre imágenes de RM sirve como coadyuvante en el diagnóstico in vivo de la EA y DCL.
3. El ejercicio físico produce mejoras cognitivas en personas con EA y DCL.
4. La resonancia magnética y la volumetría tienen potencial como herramientas de seguimiento de la evolución de los pacientes.
5. Son necesarios estudios a partir de este protocolo para demostrar si el ejercicio físico aumenta el volumen de áreas relacionadas con la memoria en EA y DCL.

7. AGRADECIMIENTOS

7. AGRADECIMIENTOS

Quisiera mostrar mi agradecimiento a todas las personas que han hecho posible la realización de este trabajo final de grado:

En primer lugar, mi más sincero agradecimiento a mi directora del trabajo, Ana M^a Insausti por su atención, interés y ayuda sin que este trabajo no hubiera sido posible.

A mis padres y hermano, porque siempre me han apoyado y han estado cuando los he necesitado.

A mis amigos y compañeras de piso, que me han ayudado a salir adelante en momentos en los que estaba ofuscado.

A Emilio Artacho, por ayudarme a comprender mejor la estereología.

A la Universidad Pública de Navarra, especialmente a la Facultad de Fisioterapia por hacerme posible llevar a cabo este trabajo.

El fin último de este trabajo es contribuir, en la medida de lo posible, en la investigación de la Enfermedad de Alzheimer, para intentar disminuir el sufrimiento que la misma causa.

A todos ellos, mi gratitud.

8. BIBLIOGRAFÍA

8. BIBLIOGRAFÍA

1. ¿Qué es la demencia? | [Internet]. ¿Qué es la demencia? | Alzheimer's Association Spanish Portal. [cited 2017 Feb 25]. Available from: <http://www.alz.org/espanol/about/qué-es-la-demencia.asp>
2. López-Pousa S, Garre-Olmo J. La demencia: concepto y epidemiología. In: Enfermedad de Alzheimer y otras Demencias. 4º Edición. Madrid: Médica Panamericana; 2011. p. 29–37.
3. Clasificación de Demencias [Internet]. [cited 2017 Feb 25]. Available from: <http://www.alzfae.org/alzheimer/clasificacion-demencias>
4. Román GC, Erkinjuntti T, Wallin A, Pantoni L, Chui HC. Subcortical ischaemic vascular dementia. *Lancet Neurol*. 2002 Nov;1(7):426–36.
5. Román Campos G. Deterioro cognitivo vascular y demencia vascular. In: Enfermedad de Alzheimer y otras Demencias. 4º Edición. Madrid: Médica Panamericana; 2011. p. 387–9.
6. Gómez E, del Ser T. Demencia con cuerpos de Lewy. In: Enfermedad de Alzheimer y otras Demencias. 4º Edición. Madrid: Médica Panamericana; 2011. p. 289–300.
7. Genís Batlle D. Demencia y enfermedad de Parkinson. In: Enfermedad de Alzheimer y otras Demencias. 4º Edición. Madrid: Médica Panamericana; 2011. p. 301–9.
8. López-Sendón Moreno JL, García de Yébenes Prous J. Demencia en la enfermedad de Huntington. In: Enfermedad de Alzheimer y otras Demencias. 4º Edición. Madrid: Médica Panamericana; 2011. p. 365–74.
9. Lladó Piarrumaní A, Sánchez-Valle Díaz R. Demencia por priones. In: Enfermedad de Alzheimer y otras Demencias. 4º Edición. Madrid: Médica Panamericana; 2011. p. 497–504.
10. Reisberg B, Ferris SH, de Leon MJ, Crook T. The Global Deterioration Scale for assessment of primary degenerative dementia. *Am J Psychiatry*. 1982 Sep;139(9):1136–9.
11. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*. 1975 Nov;12(3):189–98.
12. Cejudo Jiménez J, Gómez-Conesa A. Ejercicio físico en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. *Fisioterapia*. 2011 May;33(3):111–22.
13. Nascimento CMC, Varela S, Ayan C, Cancela JM. Efectos del ejercicio físico y pautas básicas para su prescripción en la enfermedad de Alzheimer. *Rev Andal Med Deporte*. 2016 Mar;9(1):32–40.
14. Näslund J, Haroutunian V, Mohs R, Davis KL, Davies P, Greengard P, et al. Correlation Between Elevated Levels of Amyloid β -Peptide in the Brain and Cognitive Decline. *JAMA*. 2000 Mar 22;283(12):1571–7.

15. Cummings BJ, Pike CJ, Shankle R, Cotman CW. Beta-amyloid deposition and other measures of neuropathology predict cognitive status in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 1996 Dec;17(6):921–33.
16. Pais Sousa E. Detección temprana del Alzheimer mediante la estimación volumétrica de la corteza temporopolar medial sobre imágenes de resonancia magnética. [Trabajo fin de máster]. [Tudela]: Universidad Pública de Navarra;
17. López-Álvarez J, Agüera-Ortiz LF. Nuevos criterios diagnósticos de la demencia y la enfermedad de Alzheimer: una visión desde la psicogeriatría. *Psicogeriatría*. 2015;5(1):3–14.
18. Neira F, Ortega JL. Antagonistas de los receptores glutamatérgicos NMDA en el tratamiento del dolor crónico. *Rev Soc Esp Dolor*. 2004 May;11(4):48–60.
19. Morris JC, Storandt M, Miller JP, McKeel DW, Price JL, Rubin EH, et al. Mild cognitive impairment represents early-stage Alzheimer disease. *Arch Neurol*. 2001 Mar;58(3):397–405.
20. Palleschi L, Vetta F, De Gennaro E, Idone G, Sottosanti G, Gianni W, et al. Effect of aerobic training on the cognitive performance of elderly patients with senile dementia of alzheimer type. *Arch Gerontol Geriatr*. 1996 Jan 1;22:47–50.
21. Lautenschlager NT, Cox KL, Flicker L, Foster JK, van Bockxmeer FM, Xiao J, et al. Effect of physical activity on cognitive function in older adults at risk for Alzheimer disease: a randomized trial. *JAMA*. 2008 Sep 3;300(9):1027–37.
22. Baker LD, Frank LL, Foster-Schubert K, Green PS, Wilkinson CW, McTiernan A, et al. Effects of aerobic exercise on mild cognitive impairment: a controlled trial. *Arch Neurol*. 2010 Jan;67(1):71–9.
23. Kemoun G, Thibaud M, Roumagne N, Carette P, Albinet C, Toussaint L, et al. Effects of a physical training programme on cognitive function and walking efficiency in elderly persons with dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2010;29(2):109–14.
24. Colcombe SJ, Erickson KI, Scaif PE, Kim JS, Prakash R, McAuley E, et al. Aerobic exercise training increases brain volume in aging humans. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2006 Nov;61(11):1166–70.
25. Frankó E, Insausti AM, Artacho-Pérula E, Insausti R, Chavoix C. Identification of the human medial temporal lobe regions on magnetic resonance images. *Hum Brain Mapp*. 2014 Jan;35(1):248–56.
26. Blaizot X, Mansilla F, Insausti AM, Constans JM, Salinas-Alamán A, Pró-Sistiaga P, et al. The human parahippocampal region: I. Temporal pole cytoarchitectonic and MRI correlation. *Cereb Cortex N Y N 1991*. 2010 Sep;20(9):2198–212.
27. Insausti R, Amaral DG. Hippocampal Formation. In: *The Human Nervous System*. 3^o. Neuroscience Research Australia, Sydney, Australia: Academic Press; 2012. p. 871–914.

28. Xie L, Pluta JB, Das SR, Wisse LEM, Wang H, Mancuso L, et al. Multi-template analysis of human perirhinal cortex in brain MRI: Explicitly accounting for anatomical variability. *NeuroImage*. 2017 Jan 1;144, Part A:183–202.
29. Insausti R, Juottonen K, Soininen H, Insausti AM, Partanen K, Vainio P, et al. MR volumetric analysis of the human entorhinal, perirhinal, and temporopolar cortices. *AJNR Am J Neuroradiol*. 1998 Apr;19(4):659–71.
30. Delgado González JC. Caracterización neurorradiológica y citoarquitectural de los componentes de la formación hipocampal en individuos control y con enfermedad de Alzheimer. Estudio cuantitativo morfométrico y estereológico. [Albacete, España]: Universidad de Castilla-La Mancha; 2015.
31. Mouton PR. Regional value estimation. In: *Unbiased stereology A concise guide*. The Johns Hopkins University Press; 2011. p. 9–14.
32. Subbiah P, Mouton P, Fedor H, McArthur JC, Glass JD. Stereological analysis of cerebral atrophy in human immunodeficiency virus-associated dementia. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1996 Oct;55(10):1032–7.
33. Huang EJ, Reichardt LF. Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annu Rev Neurosci*. 2001;24:677–736.
34. Cotman C. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci*. 2002 Jun 1;25(6):295–301.
35. Rolland Y, Rival L, Pillard F, Lafont C, Rivière D, Albarède J, et al. Feasibility [corrected] of regular physical exercise for patients with moderate to severe Alzheimer disease. *J Nutr Health Aging*. 2000;4(2):109–13.
36. Vaughan S, Wallis M, Polit D, Steele M, Shum D, Morris N. The effects of multimodal exercise on cognitive and physical functioning and brain-derived neurotrophic factor in older women: a randomised controlled trial. *Age Ageing*. 2014 Sep 1;43(5):623–9.
37. Christoforetti G, Oliani MM, Gobbi S, Stella F, Bucken Gobbi LT, Renato Canineu P. A controlled clinical trial on the effects of motor intervention on balance and cognition in institutionalized elderly patients with dementia. *Clin Rehabil*. 2008 Jul;22(7):618–26.
38. Martins Vital T, Soleman Hernandez SS, Valle Pedroso R, Vieira Ligo Teixeira C, Garuffi M, Miki Stein A, et al. Effects of weight training on cognitive functions in elderly with Alzheimer's disease. *Dement Neuropsychol*. 2012;6:253–9.